



LIMA

LABORATOIRE D'INNOVATIONS MOLECULAIRES ET APPLICATIONS (LIMA)

UMR 7042

---

## Etude des trihalométhanes dans les sédiments du grand canal d'Alsace

---

Rapport de stage M2 SA

**NAYRAC Nicolas**

**2018-2019, Université de Strasbourg**

Encadrants : Dr. Mourad Elhabiri et Matthieu Chessé

## Sommaire

<b>Remerciements</b>	3
<b>Abréviations</b>	4
<b>Introduction</b>	5
<b>Contexte de l'étude</b>	6
1) Localisation du site étudié	6
2) Formation des THMs	7
3) Matrice sédimentaire	8
<b>Matériels et méthodes</b>	9
1) Préparation des solutions de dopage	9
2) Echantillonnage	10
3) Conservation de l'échantillon	10
4) Traitement de l'échantillon	10
5) Analyse de l'échantillon	11
a) DB-624	11
b) HP-5MS	11
6) Matière sèche	12
7) Résultats issus d'une étude précédente	12
<b>Résultats</b>	13
1) Extraction des THMs	13
a) Extraction liquide-liquide	13
b) Micro extraction sur phase solide (SPME)	14
2) Gamme avec la SPME	15
3) Validation et spécificité	15
a) Matrice sédimentaire	16
i. Plan d'eau de Plobsheim	16
ii. Fessenheim	17
4) Etude des échantillons	18
a) Echantillons d'eau	18
i. Plan d'eau de Plobsheim	18
ii. Fessenheim	19
b) Echantillons de sédiments	19
i. Plan d'eau de Plobsheim	19
ii. Fessenheim	20
<b>Discussions</b>	20
1) Formation de dibromochlorométhane	21
2) Sources d'ions bromures	21
3) Stabilité de la fibre	22
4) Stabilité des solutions	22
5) Identification des composés	23
<b>Conclusion</b>	24
<b>Bibliographie</b>	25
<b>Annexes</b>	26

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le Docteur Mourad Elhabiri, Directeur de Recherche au CNRS de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire (LIMA, UMR 7042) en m'offrant la possibilité de travailler sur un sujet de chimie environnementale passionnant et à fort potentiel. Sa bonne humeur et ses conseils m'ont accompagné tout au long de ce stage.

Je tiens également à remercier Matthieu Chessé, Ingénieur d'Etudes au CNRS (LIMA, UMR 7042) pour ses nombreuses heures qu'il a pu passer à mes côtés à me conseiller, m'orienter et assurer le bon suivi de mon stage de recherche M2. Les discussions que nous avons pu avoir ensemble ont été très passionnantes et enrichissantes pour ma culture scientifique et pour faire progresser le projet.

Ensuite, je voudrais adresser une attention toute particulière aux autres personnes impliquées dans ce projet pluridisciplinaire *Juxta-Rhenum* : Dr. Laurent Schmitt (LIVE), Dr. Mireille Del Nero (IPHC), Dr. Christelle Roy (IPHC), Dr. François Chabaux (LHYGES), Dr. Agnès Braud (ICUBE) ainsi que les nombreux étudiants de master également impliqués dans ce projet sur d'autres aspects scientifiques.

Les réunions passées à échanger sur les différents volets du projet *Juxta-Rhenum* m'ont permis de mieux orienter mon stage et d'avoir une compréhension globale du projet.

Enfin, je tiens à remercier la bonne humeur apportée par l'ensemble des membres de l'équipe Chimie Bioorganique et Médicinale et du laboratoire LIMA dans son ensemble ainsi que les nombreuses discussions que j'ai pu avoir sur des disciplines transverses.

## Abréviations

LIMA	Laboratoire d'innovations moléculaires et applications
SPME	Solid phase micro-extraction
SPE	Solid phase extraction
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DIF	Détecteur à ionisation de flamme
DCE	Détecteur à capture électronique
SM	Spectrométrie de masse
ID	Injection directe
THM	Trihalométhanes
POP	Polluants organiques persistants
PCB	Polychlorobiphényles
NP	Nanoparticules
$t_r$	Temps de rétention
JR	Juxta-Rhenum
GCA	Grand canal d'Alsace
PB	Plobsheim
DEE	Diéthyl-éther
MeOH	Méthanol
SPC	Sous-produits de chloration
EDF	Electricité de France
CNPE	Centre nucléaire pour la production d'électricité
OHM	Observatoire Hommes-milieux
IE	Ingénieur d'études
Dr	Docteur
ADN	Acide désoxyribonucléique
ELL	Extraction liquide-liquide
ASN	Agence de sûreté nucléaire
SES	Socio-écosystème
MON	Matière organique naturelle
HAA	Haloacetic acids
HAN	Haloacétonitriles
AH	Acides humiques
SH	Substances humiques
COT	Carbone Organique Total
DBCM	DiBromoChloroMéthane
BDCM	BromoDiChloroMéthane

## Résumé

Le chlore est un élément chimique utilisé comme agent de désinfection de l'eau dans le monde [1]. Cependant, malgré l'efficacité reconnue du chlore comme désinfectant, l'excès de chlore peut réagir avec la matière organique naturelle (acides humiques et fulviques) pour former les trihalométhanes (THM). Ces sous-produits de chloration (SPC) présentent des mécanismes d'action variés pour l'Homme (cytotoxicité, génotoxicité et mutagénicité) et peuvent aller jusqu'à entraîner une mutation au niveau du matériel génétique (ADN). L'utilisation d'eau de javel (hypochlorite de sodium) par le CNPE de Fessenheim depuis 2002, suite à un changement progressif des tuyaux du circuit de refroidissement, a pu entraîner la formation de THM dans le grand canal d'Alsace (GCA).

Ce stage fait suite à une précédente étude qui avait conclu à l'absence de THM dans les eaux du GCA [2]. Dans le cadre de ce travail de stage M2, l'objectif était d'évaluer si les THM ont pu se retrouver piégés dans les sédiments du GCA.

*Mots-clés : trihalométhanes, sous-produits de chloration, CNPE de Fessenheim, grand canal d'Alsace, sédiments.*

## Introduction

L'arrêt définitif du CNPE de Fessenheim, acté en 2018 par l'Agence de Sûreté Nucléaire (ASN), prévoit l'arrêt complet des deux réacteurs à l'horizon de l'été 2020 [3]. L'impact de la fermeture de la centrale sur le socio-écosystème (SES) de Fessenheim est à l'origine d'un



Figure 1-Centre nucléaire de production d'électricité de Fessenheim (Source : Résumé non technique de l'étude d'impact - Centrale nucléaire de Fessenheim - INB 75)

projet IdEx labellisé *Juxta-Rhenum*. Ce projet interdisciplinaire, qui regroupe à la fois des acteurs scientifiques, économiques, juridiques, sociaux et environnementaux a pour mission de décrire, comprendre et modéliser le mode de fonctionnement passé, actuel et futur du SES de Fessenheim. Par ailleurs, la Région Grand-Est porte l'ambition, dans le cadre d'une étroite coopération franco-allemande transfrontalière, de redynamiser ces territoires par l'implantation d'entreprises, la création de nouveaux emplois, l'innovation et l'excellence énergétique, tout en garantissant un développement durable, solidaire et équilibré. Notons également que suite au projet *Juxta-Rhenum* un projet de création d'observatoire Hommes-

Milieux (OHM) porté par le CNRS et l'Université de Strasbourg (Responsable : Pr Dominique Badariotti) a été accepté et constitue désormais le 13<sup>ème</sup> OHM du LabEx DRIIHM (Dispositif de Recherche Interdisciplinaire sur les Interactions Hommes-Milieus).

Les deux unités du CNPE de Fessenheim, couplées au réseau électrique à partir de 1977, produisent une puissance totale de 1800 MWe (MégaWatt électrique). Celles-ci sont refroidies en circuit ouvert par l'eau du grand canal d'Alsace [4]. De 2002 à 2011, les tuyaux en laiton (alliage cuivre/zinc) du circuit de refroidissement ont été progressivement remplacés par des tuyaux en acier inoxydable. Bien que ce changement fût motivé par des raisons environnementales (non-rejets de métaux dans le GCA), la principale raison fût économique ; en effet, l'acier inoxydable est environ 5 fois moins cher que le laiton. Cependant, l'acier inoxydable présente un défaut que le laiton ne présente pas : il ne possède pas de propriétés biocides. En conséquence, l'utilisation massive d'eau de javel (hypochlorite de sodium) a été rendue nécessaire pour détruire les micro-organismes (ex., bactéries, virus, champignons, micro-algues...) qui pouvaient se développer à la surface des tuyaux. L'excès de chlore peut ainsi réagir avec la matière organique naturelle (ex., acides humiques et fulviques), ce qui peut entraîner la formation des trihalométhanes (THMs). Ces polluants organiques, charriés par suite par le grand canal d'Alsace, peuvent persister dans l'écosystème (ex., eaux et/ou sédiments) et rester stables pendant une centaine d'années. Leurs effets toxicologiques sont avérés et ils sont reconnus comme étant des perturbateurs endocriniens et cancérigènes.

Cette prise de conscience est à l'origine de mon sujet de stage qui vise à déterminer s'il y a présence ou non de ces THMs dans les sédiments du GCA et qui fait suite à une précédente étude [2] qui a conclu à l'absence de THMs dans les eaux du GCA. Pour cela, la mise au point, l'optimisation et la validation de la méthode analytique ont été nécessaires pour pouvoir analyser des matrices sédimentaires.

## Contexte de l'étude

### 1) Localisation du site étudié



Figure 2- Le GCA avec ses centrales hydroélectriques et nucléaires

Le CNPE de Fessenheim est aménagé en bordure du GCA, sur le territoire de la commune de Fessenheim, située dans le département du Haut-Rhin (68) à environ 30 kilomètres de Mulhouse. Sa superficie totale est de 106 hectares et il abrite deux réacteurs à eau pressurisée (REP) d'une puissance de 900 MWe chacun [4]. Il assure 65% de la production d'électricité Alsacienne, soit 1,5 à 2 % de la production d'électricité en France.

Achévé en 1959, le GCA prend sa source à Kembs et rejoint le Rhin à

Breisach. Il s'étend sur 52 kilomètres de long et est situé sur la rive gauche du vieux-Rhin. Au total, il ne compte pas moins de quatre centrales hydroélectriques, dont deux en amont et deux en aval par rapport au CNPE de Fessenheim, qui assurent par ailleurs la production de 4 milliards de kWh chaque année. Globalement, le GCA suit le même régime nivo-glaciaire que le Rhin : crues de mai à septembre et période d'étiage entre octobre et mars. Son débit moyen annuel est de 955 m<sup>3</sup>/s et sa valeur maximale est de 1400 m<sup>3</sup>/s, ce qui en fait une très bonne source de refroidissement pour le CNPE de Fessenheim [5].

## 2) Formation des THMs

Les trihalométhanes sont des sous-produits de chloration (SPC) qui résultent de la réaction entre le chlore libre (Cl<sub>2</sub>+HOCl+ClO<sup>-</sup>), la matière organique naturelle (MON), les ions bromure ou les ions iodure. Parmi les SPC on peut citer, outre les THMs, les : acides haloacétiques (HAAs), oxohalogénures, halonitrométhanés, iodo-acides, haloamides ou encore haloacétonitriles (HANs). Il est intéressant de faire remarquer que les THMs et les HAAs constituent à eux-seuls entre 20 et 30 % de la masse totale des SPC, ce qui peut justifier de l'intérêt croissant que portent les laboratoires de recherche et d'analyse pour la caractérisation, le suivi et le mécanisme de formation des THMs [6].

Par ailleurs, les acides humiques (AHs), qui font partis de la famille des substances humiques (SHs), sont reconnus comme étant les principaux précurseurs lors de la formation des THMs. Les AHs sont des macromolécules polyfonctionnelles (esters, alcools, phénols, catéchols...) formées par décomposition dans les sols des tissus végétaux et/ou animaux et ayant des masses moléculaires comprises entre 5000 et 10 000 Daltons. Les AHs possèdent la propriété de s'agréger entre eux par des interactions faibles : liaisons hydrogène, interactions électrostatiques, interactions de Van der Waals (ex., Keesom, Debye, London) ou encore interactions hydrophiles/hydrophobes [7]. Bien que plusieurs méthodes d'extraction et de caractérisation existent (ex., indice SUVA) pour déterminer la formule développée des SH [8],

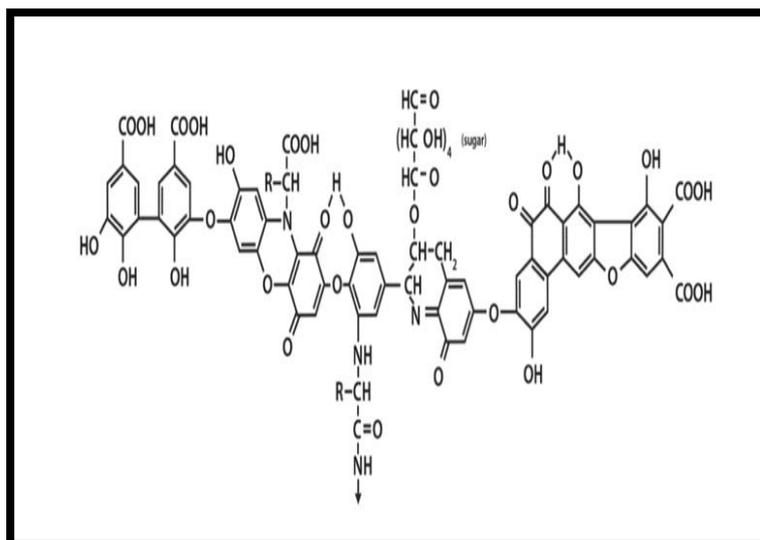


Figure 3- Un modèle d'acide humique selon Stevenson (1982)

la grande variété ainsi que la complexité (exemple à la Figure 3) des structures rencontrées rend difficile, même à l'heure actuelle, la compréhension détaillée des mécanismes de formation des THMs. Les chercheurs s'intéressent donc uniquement aux fonctions réactives des AHs et non à la molécule dans son ensemble. Le problème est alors simplifié au maximum et les réactifs couramment utilisés dans les essais de laboratoires sont les suivants : méthyl-cétones, β-dicétones, phénols ou encore résorcinol. Ce dernier affiche un excellent rendement molaire dans la réaction de formation des THMs [6]. Le mécanisme détaillé qui explique cette formation est le suivant dans le cadre de cet exemple [7] :

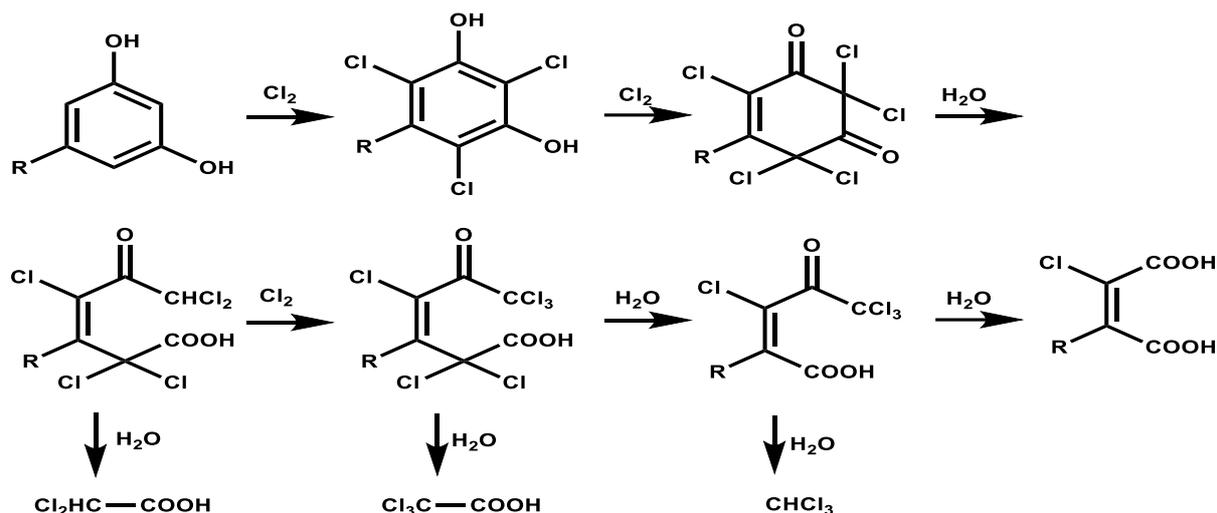


Figure 4- Mécanisme de formation des THM à partir du résorcinol (tiré de l'ouvrage haloforms and related compounds in drinking water) – Réalisé sur Chemdraw®

D'une manière générale, l'enchaînement des réactions de substitution électrophile des atomes d'hydrogène par les atomes de chlore ainsi que l'étape finale d'hydrolyse acide ou basique conduisent à la formation des THMs ou HAAs. Dans le cas du résorcinol (Figure 4), du chloroforme et d'autres SPCs (acides mono, di et trichloroacétiques) sont ainsi formés.

Plusieurs paramètres physico-chimiques peuvent orienter la formation des SPCs : on peut citer par exemple la teneur en matières organiques (MOs) précurseurs, le pH, les ions bromures ou encore la température. Il serait bien trop fastidieux d'expliquer ici un par un les effets de chaque paramètre sur la formation des THMs, mais on peut proposer que chacun influe à sa manière sur le rendement de la réaction, que ce soit en jouant sur la proportion acide hypochloreux/ion hypochlorite (effet de la température et du pH) ou encore en modifiant la réactivité des sites impliqués dans le mécanisme réactionnel (effet du pH) [9]. Les ions bromure, bien que n'ayant pas le potentiel de réagir directement avec la MON, peuvent par réaction avec l'acide hypochloreux (HOCl) conduire à la formation d'acide hypobromeux (HOBr) qui peut ainsi participer aux réactions d'oxydation de la MON. L'équation de la réaction est la suivante :  $\text{HOCl} + \text{Br}^- = \text{HOBr} + \text{Cl}^-$  (1). L'acide hypobromeux est ensuite en équilibre acido-basique avec sa base conjuguée, l'ion hypobromite  $\text{BrO}^-$ . Le  $pK_a$  du couple  $\text{HOBr}/\text{BrO}^-$  à 25°C est de 8,7 contre 7,5 pour le couple  $\text{HOCl}/\text{ClO}^-$  à la même température. D'après la littérature, l'acide hypobromeux réagit bien plus rapidement que l'acide hypochloreux sur la MON, ce qui explique la formation majoritaire de THM mixtes (chlorobromés) ou bromés [10]. De plus, les ions bromures peuvent être régénérés à l'issue de l'oxydation de la MON contrairement aux ions chlorures et donc participer à d'autres réactions.

### 3) Matrice sédimentaire

Un sédiment est le résultat d'une retombée de particules, initialement en suspension dans l'eau, sous l'effet de la gravité. On peut classer un sédiment par sa granulométrie, du sédiment fin (ex., argile, limon) au sédiment grossier (ex., sable). Plusieurs types d'interactions polluant-sédiment existent. Elles sont basées sur des processus d'adsorption (physisorption et/ou chimisorption) dans lesquels les polluants vont venir se fixer de manière réversible ou non sur les sédiments [11]. Parmi ces interactions, on peut citer les : liaisons hydrogène, forces

électrostatiques, interactions de Van Der Waals ou encore les interactions  $\pi$ - $\pi$ . Selon la polarité du polluant et de son caractère ionisable ou non, vont naître certaines interactions qui seront aussi fonction de la composition chimique des sites réactionnels présents dans les sédiments. Parmi la MON (i.e., = sites réactionnels) présente dans les sédiments, on retrouve deux catégories : celle des substances humiques (ex., acides humiques ou fulviques) et celle des substances non-humiques (ex. peptides, protéines, hydrocarbure). La balance hydrophile/hydrophobe est donc un critère très important pour comprendre ces interactions : en effet, un polluant hydrophile aura plutôt tendance à interagir avec les fonctions carbonyles (ex. acide carboxylique, cétone, aldéhyde) alors qu'un polluant hydrophobe préférera des noyaux aromatiques. Dans le cas des THMs, il est assez aisé de concevoir une liaison hydrogène entre un atome de chlore et un hydrogène d'une fonction acide carboxylique par exemple ou encore une interaction hydrophobe avec un cycle aromatique.

Bien qu'il n'existe pas de normes actuellement concernant les limites fixées sur les teneurs en THMs dans les sédiments, l'INERIS a fait savoir dans son rapport de 2007 relatif à la qualité des eaux brutes que la somme des quatre THMs (i.e., chloroforme, dichlorobromométhane (DCBM), chlorodibromométhane (CDBM) et bromoforme) ne devait pas excéder 100 ppm (1 ppm=1  $\mu\text{g/L}$ ) [12]. Par conséquent, une teneur limite équivalente en THMs dans les sédiments a été fixée : elle vaut 0.25 mg/kg de sédiment brut (i.e., conservé dans le réfrigérateur).

Avant d'interpréter les résultats des chromatogrammes obtenus pour tenter de comprendre plus en détail les mécanismes de formation des THMs, il convient tout d'abord d'expliquer l'ensemble du protocole analytique (échantillonnage, conservation et traitement de l'échantillon) préalable à toute analyse d'échantillon.

## Matériels et méthodes

Cette partie explique le protocole mis en place, de l'échantillonnage des sédiments, en passant par l'extraction des THM par *solid phase micro-extraction* (SPME) jusqu'à l'analyse des THMs par chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à un détecteur universel à ionisation de flamme (FID).

### 1) Préparation des solutions de dopage

Deux solutions mères de dopage sont disponibles : une solution qui contient le mélange des quatre THMs en proportion équimolaire à 2 000  $\mu\text{g/mL}$  et une autre qui contient l'étalon interne seul (i.e., fluorobenzène) à 2 000  $\mu\text{g/mL}$ . Les deux solutions sont stabilisées dans du MeOH et le volume total de chaque solution est de 1 mL.

Pour la préparation de la solution intermédiaire en mix THM à 100  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{L}$  de la solution mère à 2 000  $\mu\text{g/mL}$  sont prélevés avec une seringue Hamilton™ de 500  $\mu\text{L}$  et injectés dans une fiole jaugée de 5 mL préalablement remplie au 2/3 du volume total avec du MeOH. Le volume total est complété au trait de jauge avec du MeOH. Le dopage à 0,2 mg/kg est réalisé en injectant 4  $\mu\text{L}$  de la solution intermédiaire à 100  $\mu\text{g/mL}$  avec une seringue Hamilton™ de 10  $\mu\text{L}$  dans 2 000 mg de sédiments.

Pour la préparation de la solution intermédiaire en étalon interne à 20 µg/mL, 100 µL de la solution mère à 2 000 µg/mL sont prélevés puis injectés dans une fiole jaugée de 10 mL préalablement remplie partiellement en MeOH. Le volume total est complété au trait de jauge avec du MeOH. Le dopage à 0,05 mg/kg est réalisé en injectant 5 µL de la solution à 20 µg/mL à l'aide d'une seringue Hamilton™ de 10 µL dans 2 000 mg de sédiments.

La quantité de matière d'étalon interne injectée dans les sédiments reste la même pour toutes les expériences (pour s'assurer de la bonne répétabilité) mais celle en mix de THMs peut varier selon le type d'essais (répétabilité, reproductibilité, spécificité).

## **2) Echantillonnage**

Les sédiments sont prélevés à l'aide d'une pelle en inox (Florabest™), broyés dans un mortier en porcelaine et déposés sur un tamis en inox d'un diamètre interne de 2 millimètres (modèle T34-2mm d'AFNOR-ASTM™). Le tamis est secoué vigoureusement et le filtrat est récupéré puis déposé dans un flacon en verre teinté borosilicaté d'un volume de 50 mL (VWR®). Les particules grossières (ex., cailloutis, branches) sont retirées du support et le tamis est lavé avec l'eau du site. Le choix du matériel est fonction du type de polluant analysé (NF EN ISO 5667-15, -2009) : plastique pour les métaux et acier inoxydable pour les composés organiques. Le verre teinté est utilisé par ailleurs pour éviter toute photo-dégradation des THMs. Les flacons sont transportés jusqu'au laboratoire où ils sont alors traités.

## **3) Conservation de l'échantillon**

Dès leur arrivée au laboratoire, les échantillons sont conservés à +4°C dans le réfrigérateur. Après chaque utilisation d'un flacon échantillon, celui-ci est remis directement dans le réfrigérateur. L'AQUAREF recommande dans son guide d'analyse de conserver les échantillons au maximum 24 heures dans le réfrigérateur à  $5 \pm 3$  °C [13]. En pratique, cela n'a pas été possible (nombre d'essais élevé par échantillon) mais les sédiments ont été traités le plus rapidement possible pour se rapprocher au mieux des recommandations.

## **4) Traitement de l'échantillon**

Tout d'abord, exactement environ 2 000 mg de sédiments sont pesés dans un Vial de 15 mL avec un bouchon en Téflon (SUPELCO®, Lot : 89673). L'échantillon pesé est homogénéisé par agitation mécanique pendant 10 minutes à 150 rpm en utilisant le modèle KS-250 Basic LABORTECHNIK (IKA®).

Ensuite, deux cas distincts sont possibles : soit un dopage, soit aucun dopage (n'est réalisé avec la solution des mix THMs dans l'échantillon de sédiments. Dans le premier cas, le comportement des THMs dans la matrice sédimentaire est étudié : il s'agit alors d'une étude de spécificité. Dans le deuxième cas, la matrice est analysée dans son état brut : il s'agit d'une étude de l'échantillon. Dans tous les cas (avec ou sans dopage par les THMs), la matrice est dopée avec la solution d'étalon interne pour se placer dans des conditions d'étalonnage interne.



Figure 5 - Deux Vials après agitation magnétique pendant 15 minutes (5000rpm) suivie d'ultra-sons pendant 5 minutes à 37 kHz

Puis à cela, 5 mL d'eau de qualité *analytical grade* VWR (Hypersolvant™) sont ajoutés ainsi qu'exactement environ 2 000 mg de chlorure de sodium. Une agitation magnétique de 15 minutes à 5 000 rpm (modèle RH-KT/C de IKA®) suivie de 5 minutes aux ultra-sons à 37 kHz (modèle FB15053 de Fisherbrand®) est appliqué pour extraire les THMs des sédiments vers l'eau. Le Vial est ensuite retiré pendant 5 minutes puis placé dans un bain-marie à 40°C. La photo ci-contre montre l'allure de deux vials ayant subis toutes les extractions citées précédemment.

Finalement, une fibre SPME (modèle Agilent technologies®) pénètre le Téflon et la phase stationnaire (Carboxen/PDMS, 75µm, 23 Ga) est déployée dans la phase gazeuse du Vial, pour extraire semi-quantitativement les THMs, à la suite d'équilibres liquide-vapeur et vapeur-phase stationnaire. Après 40 minutes d'extraction, la fibre est retirée du Vial (en faisant bien attention de ne pas oublier de rétracter la phase stationnaire), puis elle est déployée dans l'injecteur du chromatographe où les composés volatils seront désorbés sous l'effet de la température.

## 5) Analyse de l'échantillon

### a) DB-624

L'analyse est effectuée sur une GC-FID (modèle Agilent® 7820A), avec un insert en mode *headspace* pour SPME de 0.75mm de diamètre interne (Modèle Agilent® 5190-4048, Ultra Inert), un injecteur en mode *splitless*, une colonne capillaire DB-624 et un détecteur à ionisation de flamme (FID). La température et la pression de l'injecteur sont respectivement maintenues à 300°C et 15 psi. La colonne capillaire, de dimensions 30m×0.250mm×1.40µm est soumise à un gradient de température du four : 35°C pendant 6 minutes, 35°C/min jusqu'à 245°C (12 minutes) puis température constante de 245°C pendant 1 minute (13 minutes). La température du détecteur FID est maintenue constante à 300°C et la combustion est alimentée par une flamme constituée d'un mélange de dihydrogène (i.e., produit de l'électrolyse de l'eau) et d'air.

### b) HP-5MS

L'analyse est effectuée sur une GC-FID, avec un injecteur en mode split (split ratio 5-1) chauffé à 250°C sous une pression de 7.5 psi. Un gradient de température est appliqué dans la colonne capillaire HP-5MS, de dimensions 30m×0.320mm×0.25µm : 35°C pendant 6 minutes puis 35°C/min jusqu'à 280°C (13 minutes) et 1 minute à 280°C (14 minutes). Le détecteur FID est maintenu à 350°C et la combustion est alimentée par un débit de dihydrogène à 30 mL/min et d'air à 400 mL/min. Le volume injecté à chaque expérience est de 1 µL.

## 6) Matière sèche

La matière sèche est l'un des quatre paramètres physiques nécessaires pour la caractérisation des sédiments, les autres paramètres étant la granulométrie (% de proportion limon-argile-sable), le carbone organique total (COT) et la densité. Ces derniers paramètres n'ont pas été examinés dans le cadre de ce stage de recherche pour des raisons de temps mais également de cohérence. Le calcul de la matière sèche permet de normaliser les résultats obtenus en s'affranchissant de la partie aqueuse de l'échantillon. Pour déterminer le pourcentage de matière sèche dans les sédiments, il convient de suivre un protocole qui fait l'objet d'une norme (NF ISO 11465, Août 1994). Tout d'abord, trois verres de montre sont séchés à vide dans l'étuve à  $105 \pm 5^\circ\text{C}$  pendant 45 minutes. Ensuite, les verres de montre sont placés dans un dessiccateur (contenant du silica-gel pré-activé comme agent desséchant) pendant 15 minutes et leur masse sèche  $m_0$  à vide est mesurée. Puis, une même quantité d'échantillon brut  $m_1$  est déposée sur chaque verre de montre. Après, les verres de montre sont placés dans l'étuve, toujours à  $105 \pm 5^\circ\text{C}$  pendant 45 minutes. Finalement, les verres de montre sont retirés de l'étuve, placés dans le dessiccateur pendant 15 minutes (i.e., permettant un retour à température ambiante) et la masse  $m_2$  après séchage est obtenue. Les grandeurs  $m_0$  (masse à vide),  $m_1$  (masse d'échantillon brut) et  $m_2$  (masse après séchage) sont alors connues et le calcul de la matière sèche se fait avec les équations suivantes :

$$w_{dm} = \frac{m(2) - m(0)}{m(1) - m(0)} \quad (1)$$

$$w_{(H_2O)} = \frac{m(1) - m(2)}{m(2) - m(0)} \quad (2)$$

Avec  $w_{dm}$  la fraction massique de matière sèche ( $dm=dried\ matter$ ) et  $w_{(H_2O)}$  la fraction massique en eau de l'échantillon de sédiments.

## 7) Résultats issus d'une étude précédente

Le projet de recherche M2 de l'année dernière, mené par Antoine Godfrey, avait pour objectif de déterminer s'il y avait, ou non, présence de THMs dans les eaux du GCA. Pour cela, plusieurs études avaient été menées, allant du choix de la meilleure méthode d'extraction à la méthode d'analyse la plus optimale. L'ensemble du protocole de la méthode d'extraction avait été quelque peu modifié en raison de la nature différente de la matrice étudiée (eau *versus* sédiments) : une combinaison de l'agitation magnétique et du bain à ultra-sons (20 minutes au total) contre une agitation magnétique seule pendant 30 minutes à 1 250 rpm. Par contre, le volume d'extraction (5 mL d'eau hypersolvant®) ainsi que la quantité de sel ajoutée sont restés les mêmes (exactement environ  $\pm 2\,000$  mg). L'étude de la cinétique d'extraction des THMs avait conclu à un temps optimal d'extraction de 40 minutes, durée pour laquelle environ 80% des THM étaient extraits sur la fibre. Les limites de quantification ( $20 \times S/B$ ) estimées pour chaque THM valent 43.2 ppm pour le bromoforme, 24.8 ppm pour le DCBM, 23.5 ppm pour le CDBM et 9.4 ppm pour le chloroforme, ce qui représente approximativement le double de celles calculées dans l'étude précédente, sauf pour le bromoforme. Les analyses d'échantillons d'eau de 9 sites différents avaient conclu à l'absence des quatre THMs à chaque fois ( $< LD$ ), donc à une eau finalement non polluée.

La source de pollution émettrice de THM est toujours bien présente (effluents chimiques du CNPE de Fessenheim) donc il a fallu porter une nouvelle étude mais cette fois-ci sur les sédiments du GCA. Il se trouve que c'est une matrice très intéressante, principalement de part ses propriétés d'adsorption de polluants organiques.

## Résultats

Au début de ce projet, le solvant le plus adapté pour l'extraction des THM fût déterminé par injection liquide sur GC-FID. Ensuite, la comparaison de deux colonnes, une colonne de type HP-5MS et une autre de type DB-624 (*Agilent® technologies*) a permis de déterminer celle qui permettait d'obtenir les meilleures conditions de séparation des quatre THMs. La validation du protocole d'extraction de matrices sédimentaires par SPME-GC-FID s'est ensuite avérée essentielle avant de commencer à doser des échantillons de terrain. Enfin, la teneur en THM de chaque échantillon fût estimée et a, par conséquent, permis de répondre à la problématique de cette étude.

### 1) Extraction des THMs

#### a) Extraction liquide-liquide

L'efficacité d'extraction des THMs par deux solvants organiques, le méthyl-*tert*-butyl-éther (MTBE) et le diéthyl-éther (DEE) est déterminée par extraction liquide-liquide (ELL). Pour cela, à exactement environ 1 gramme de terre, dopée soit par une solution de chloroforme dans le MeOH à 9 440 µg/mL ( $V_{inj} = 3.7 \mu\text{L}$ ), soit par une solution des mix THM/MeOH à 2 000 µg/mL ( $V_{inj} = 20 \mu\text{L}$ ), sont ajoutés 5mL d'eau de qualité HPLC puis 1 mL d'un des deux solvants organiques, tout en suivant un protocole d'agitation d'une durée fixée (20 minutes). A l'aide d'une pipette pasteur, la phase organique est récupérée et transférée dans un vial. L'analyse de l'échantillon est effectuée par injection liquide de 1 µL sur la colonne HP-5MS, comme indiqué dans la partie ci-dessus. La méthode d'agitation la plus optimale est sélectionnée et appliquée pour les futures extractions, que ce soit par ELL ou par SPME.

Les résultats montrent une absence de pics parasites lors d'une extraction réalisée avec le DEE. Les premiers dopages, effectués avec le chloroforme, indiquent un temps de rétention de l'analyte de  $t = 1.11$  minutes et ne permettent pas de dégager une tendance quant à la méthode d'agitation la plus optimale (rendements d'extraction d'environ 30% à chaque essai). Par la suite, des dopages avec la solution des mix THMs montrent l'effet des ultra-sons sur les rendements d'extractions : en effet, plus la durée d'exposition aux ultra-sons est longue, plus le rendement est élevé. Les différentes méthodes d'agitation sont adaptées par la suite sur une fibre SPME car il s'agit d'une méthode d'extraction qui présente de nombreux avantages comparée à la méthode qui vient d'être développée.

## b) Micro extraction sur phase solide (SPME)

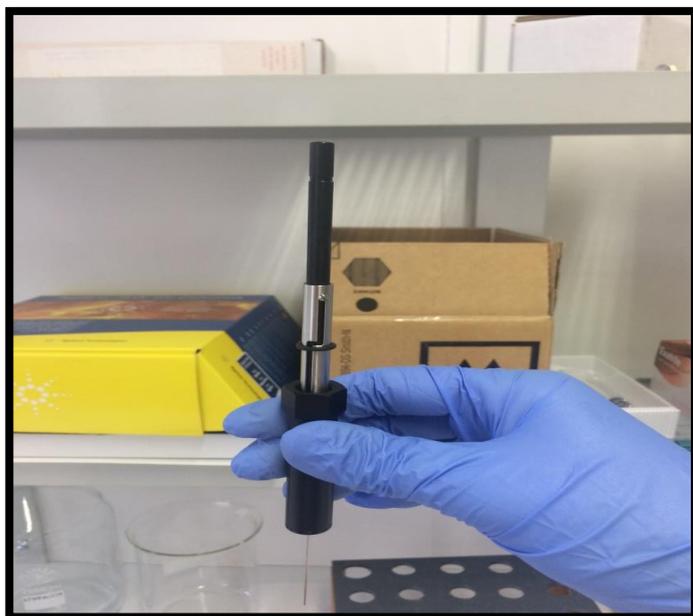


Figure 6 - Fibre SPME

Le volume de phase aqueuse est identique à l'ELL (5 mL) mais cette fois-ci l'extraction n'est plus réalisée par un solvant organique mais par une fibre SPME dont la phase stationnaire est en polydiméthylsiloxane (PDMS, Figure 6). Méthode d'extraction semi-quantitative, la SPME est également bien plus sensible qu'une simple ELL (facteur de concentration d'environ 400) et donc les quantités injectées ainsi que les concentrations des solutions de dopage doivent être ainsi réévaluées : c'est ainsi que les concentrations de la solution intermédiaire en mix THMs et celle en fluorobenzène sont respectivement de 100 µg/mL et 20 µg/mL.

de 100 µg/mL et 20 µg/mL.

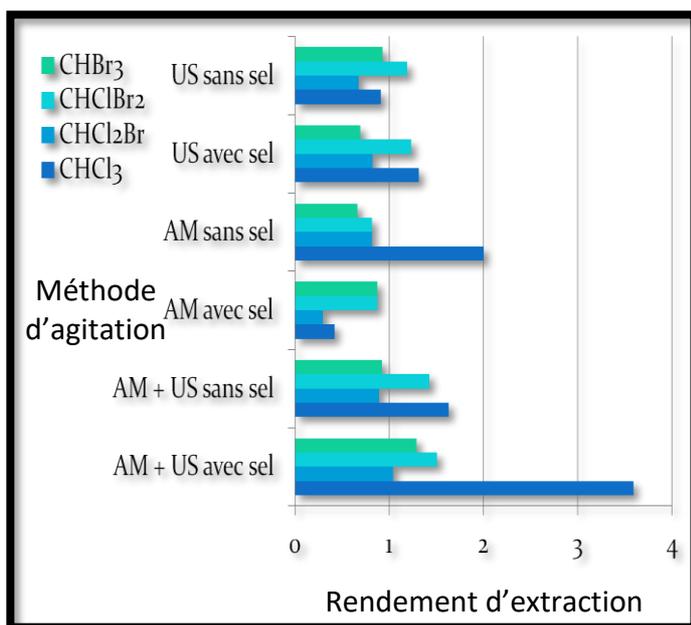


Figure 7 - Diagramme représentant les rendements des différentes méthodes d'agitations

Les quantités injectées en mix THMs et en étalon interne correspondent à des volumes d'injection respectifs de 4 µL et 5 µL. Le protocole est adapté à la fibre et la méthode d'extraction la plus optimale est validée. Les résultats, donnés en fonction du rapport des rapports d'aires de chaque composé, correspondent à une comparaison entre les résultats obtenus par dopage sur de la terre et dans une solution aqueuse d'eau de qualité HPLC. Plusieurs méthodes d'agitation ont été testées (ex., agitation au moyen d'un barreau magnétique, ultra-sons ou combinaison des deux, Figure 7), avec une durée constante (20 minutes) et les résultats sont résumés sur la Figure

7. La méthode d'agitation la plus optimale est une agitation magnétique de 15 minutes à 5000 rpm suivie de 5 minutes d'exposition aux ultra-sons à 37 kHz. Par la suite, tous les essais sur des échantillons de sédiments ont été réalisés selon cette même méthode d'extraction.

## 2) Gamme avec la SPME

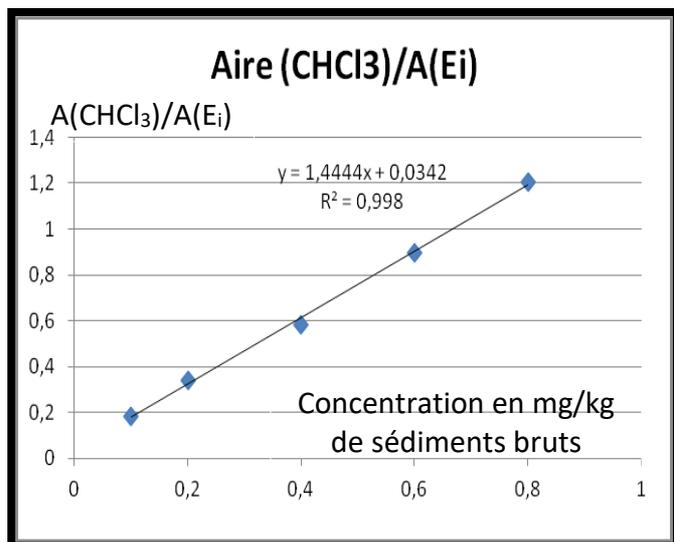


Figure 8 - Droite d'étalonnage interne du chloroforme

Notre gamme comprend 5 concentrations de dopage différentes : 40, 80, 160, 240 et 320 ppm. Les volumes d'injections respectifs sont de 2, 4, 8, 12 et 16  $\mu$ L. Elle correspond à un dopage dans de l'eau de qualité HPLC (5 mL) avec ajout d'exactly environ 2 000 mg de chlorure de sodium, suivant le protocole d'extraction fixé précédemment. Les droites obtenues sont linéaires (coefficients de régression de 0.998, 0.9956, 0.9895 et 0.992 pour respectivement  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{CHCl}_2\text{Br}$ ,  $\text{CHClBr}_2$  et  $\text{CHBr}_3$ ) pour chaque composé, ce qui indique une réponse du détecteur proportionnelle à la concentration en analyte. Bien que les dopages soient effectués dans de l'eau, sont représentées en abscisse de la Figure 8 (exemple pour  $\text{CHCl}_3$ ) les concentrations équivalentes en mg/kg de sédiments bruts pour faciliter par la suite les calculs des rendements d'extractions lors des dopages effectués sur sédiments. Il s'agit d'un étalonnage interne, ce qui permet de s'affranchir des erreurs systématiques (opérateur, chromatographe, conditions) et donc de pouvoir comparer les résultats entre eux. En ordonnées figurent les rapports d'aires entre l'analyte et l'étalon interne et l'équation de la droite permet de remonter à la concentration lorsque seuls les rapports d'aires sont connus. La teneur en THM dans chaque échantillon est accessible par l'équation de la droite d'étalonnage et donc une étude de la spécificité est envisageable.

## 3) Validation et spécificité

La spécificité représente le comportement de chaque analyte dans l'échantillon, que ce soit une matrice solide, liquide ou gazeuse. Une étude de la spécificité nécessite de déterminer au préalable les valeurs de deux paramètres : la limite de détection (LD) et la limite de quantification (LQ). La limite de détection (LD) correspond à la plus petite quantité d'analyte qui peut être détectée par le système détecteur (ex., FID, ECD, MS, TCD...). En théorie des signaux, elle est équivalente à un rapport signal/bruit de 3. La limite de quantification (LQ) est la plus petite quantité d'analyte qui peut être estimée avec une bonne fiabilité. En théorie des signaux, la LQ est équivalente à un rapport signal/bruit de 10 mais dans le cadre de ce projet elle a été fixée à 20. Le Tableau 1 résume les valeurs de ces deux paramètres pour chaque composé analysé au cours de ce travail de stage :

Composé	Concentrations (ppm)			Pression de vapeur saturante 20°C (kPa)
	LD (S/N = 3)	LQ (S/N = 10)	LQ <sub>pratique</sub> (S/N = 20)	
CHCl <sub>3</sub>	1.4	4.7	9.4	21.2
CHCl <sub>2</sub> Br	3.7	12.4	24.7	6.7
CHClBr <sub>2</sub>	3.5	11.8	23.5	0.738 (25°C)
CHBr <sub>3</sub>	6.5	21.6	43.2	0.7

Tableau 1 - Valeurs théoriques de la LD et la LQ pour chaque THM

Les résultats sont en accord avec les volatilités de chaque composé : en effet, plus un composé est volatil (pression de vapeur saturante élevée), plus il est détecté et donc plus sa LD (et sa LQ) diminue. Autrement dit, si deux composés de volatilités différentes sont comparés, à une même concentration, alors la LD (et la LQ) du composé le plus volatil est inférieure à la LD (et la LQ) du composé le moins volatil.

### a) Matrice sédimentaire

Plusieurs matrices sédimentaires ont été étudiées (n=6) au cours de ce stage. Elles proviennent de trois sites différents : le petit lac à proximité du restaurant « côté lac » à Cronembourg, le plan d'eau de Plobsheim et la commune de Fessenheim. Chaque étude de spécificité s'est faite sur trois niveaux de concentrations, à savoir 0.15, 0.4 et 0.6 mg/kg de sédiment brut. A un niveau de concentration donné, il faut compter trois essais de répétabilité, soit 9 essais au total pour l'ensemble de la gamme. Finalement, la courbe de spécificité est comparée par rapport à la courbe d'étalonnage interne (réalisée dans de l'eau Hypersolv®) pour accéder aux valeurs des rendements d'extraction.

#### i. Plan d'eau de Plobsheim

Parmi les quatre sites étudiés sur le plan d'eau Plobsheim, deux contenaient une matrice sédimentaire. Les coordonnées GPS (longitude et latitude) de chaque site de prélèvement sont résumées en annexes. La localisation des différents sites de prélèvement est indiquée ci-dessous. Les résultats des études de spécificité, à savoir les rendements d'extraction pour chaque niveau de concentration, sont présentés pour chaque site de prélèvement, à savoir les sites B et C.

Dans le cas du chloroforme, les moyennes des recouvrements semblent diminuer à mesure



Figure 9 - Localisation des différents sites de prélèvements sur le plan d'eau de Plobsheim (Source : géorisques)

que la concentration de dopage augmente. Cela est caractéristique d'un effet matrice qui a la propriété « d'emprisonner » les molécules de  $\text{CHCl}_3$ , que ce soit par des interactions faibles ou fortes. D'autre part, l'écart-type relatif (RSD = Relative Standard Deviation) semble suivre la même tendance, avec des rendements d'extraction qui augmentent en fiabilité avec la concentration en chloroforme. En revanche, il est plus difficile de prévoir l'évolution des recouvrements pour les trois autres THMs. Ceux-ci semblent toutefois assez stables, ce qui peut s'expliquer de par la plus faible volatilité de ces trois autres composés.

Échantillon	Concentration ajoutée (mg/kg) <sub>brut</sub>	Moyenne des recouvrements ± RSD (%)			
		$\text{CHCl}_3$	$\text{CHCl}_2\text{Br}$	$\text{CHClBr}_2$	$\text{CHBr}_3$
Sédiments Plobsheim (Site B)	0.6 (n=3)	107 ± 6	73 ± 10	36 ± 9	78 ± 9
	0.4 (n=3)	132 ± 8	82 ± 25	85 ± 24	101 ± 20
	0.15 (n=3)	205 ± 15	72 ± 38	56 ± 42	82 ± 5
Sédiments Plobsheim (Site C)	0.6 (n=3)	109 ± 7	88 ± 6	81 ± 5	94 ± 10
	0.4 (n=3)	106 ± 3	72 ± 14	66 ± 20	74 ± 12
	0.15 (n=3)	150 ± 6	73 ± 13	119 ± 68	104 ± 19

Tableau 2 - Moyennes des recouvrements de deux matrices pour trois concentrations de dopage différentes

## ii. Fessenheim

Deux sites, nommés respectivement JR21 et JR23 et contenant à chaque fois deux prélèvements (un d'eau et un de sédiments) ont été analysés dans les 72 heures qui suivaient la première ouverture des flacons de stockage. Dans cette partie, seuls les échantillons de sédiments sont présentés. Les valeurs des concentrations de dopage sont toujours les mêmes que précédemment, de même que le nombre de réplicas par concentration.

Échantillon	Concentration ajoutée (mg/kg) <sub>brut</sub>	Moyenne des recouvrements ± RSD (%)			
		$\text{CHCl}_3$	$\text{CHCl}_2\text{Br}$	$\text{CHClBr}_2$	$\text{CHBr}_3$
Sédiments Fessenheim (JR21)	0.6 (n=3)	114 ± 14	63 ± 11	54 ± 12	67 ± 8
	0.4 (n=3)	144 ± 7	87 ± 5	83 ± 40	67 ± 30
	0.15 (n=3)	92 ± 16	60 ± 33	19 ± 42	64 ± 37
Sédiments Fessenheim (JR23)	0.6 (n=3)	186 ± 47	110 ± 44	112 ± 42	111 ± 34
	0.4 (n=3)	117 ± 4	75 ± 3	121 ± 41	118 ± 14
	0.15 (n=3)	106 ± 30	62 ± 3	188 ± 38	91 ± 45

Tableau 3 - Moyenne des recouvrements de JR21 et JR23 pour trois concentrations de dopage

Les résultats obtenus sont très hétérogènes et ceci pour les deux matrices étudiées. Pour les dopages compris entre 0.15 et 0.4 mg/kg de sédiment brut, les recouvrements augmentent avec la concentration de dopage, avec des surexpressions dans le cas du chloroforme, du

dibromochlorométhane et du bromoforme (matrice JR23) à 0.4 mg/kg. Cela semble indiquer que l'échantillon contient certainement déjà des traces significatives de THM.

Les deux études de spécificité donnent des résultats ambigus : d'une part, elles démontrent une capacité des sédiments à retenir les THM (effet matrice) mais, d'autre part, elles semblent indiquer que les sédiments sont impliqués dans la production de THM. A présent, l'analyse des échantillons s'avère nécessaire pour répondre à la problématique posée.

#### 4) Etude des échantillons

Deux types d'échantillons ont été analysés : les échantillons de sédiments et d'eaux, prélevés à proximité l'un de l'autre pour démontrer le fort pouvoir d'adsorption des sédiments. Les résultats sont donnés en mg/kg pour les sédiments et en ppm pour les échantillons d'eau.

##### a) Echantillons d'eau

##### i. Plan d'eau de Plobsheim

Sur les quatre échantillons d'eau, trois furent analysés et les concentrations des analytes (en ppm) sont reportées dans un tableau. De manière générale, les concentrations calculées sont répétables et comprises entre la LD et la LQ. Par conséquent, les résultats ne sont pas exprimés avec une trop mauvaise précision. Ils ne sont pas trop éloignés de la réalité et la seule connaissance de ces résultats permet déjà d'affirmer que l'eau de Plobsheim n'est pas polluée en THM ( $\sum 4 \text{ THM} < 100 \text{ ppm}$ , Tableau 4). Dans les échantillons B et C, tous les THM sont présents avec un léger excès de dibromochlorométhane. Pour le premier échantillon (A), c'est assez similaire à la différence près qu'il n'y a pas de bromodichlorométhane détecté. Les ions bromures sont donc réactifs vis-à-vis de l'eau et la formation de THM peut s'expliquer par la présence dans l'eau de matière organique dissoute (MOD).

Eau de surface	[X] (ppm)			
	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>
A	2.0	nd	6.4	4.8
	3.2		9.6	4.8
B	8.4	4.4	5.6	3.9
	6.4	6.4	7.2	2.9
C	4.4	4.6	5.7	5.8
	6.0	8.7	9.6	6.8

Tableau 4 - Concentrations de tous les analytes dans chaque échantillon. Nd = non détecté.

## ii. Fessenheim

Les résultats obtenus pour les deux échantillons de Fessenheim montrent l'absence de dichlorobromométhane ainsi que l'absence des autres THM dans les eaux près du CNPE de Fessenheim : en effet, la majorité des concentrations calculées sont inférieures à la LD et celles restantes comprises entre la LD et la LQ (Tableau 5). Les eaux du GCA près de Fessenheim ne sont donc pas polluées, ce qui est cohérent avec les observations faites l'année dernière. Notons toutefois que le débit annuel moyen du GCA est de 955 m<sup>3</sup>/s avec une valeur maximale de 1 400 m<sup>3</sup>/s, tandis que le plan d'eau de Plobsheim est relativement stable, ce qui contribue à des effets d'accumulation dans les eaux de surface.

Water	[X] (ppm)			
	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>
JR21	2.4	/	2.5	1.9
	2.1	/	2.5	2.9
JR23	0.8	/	4.5	7.8

Tableau 5 - Tableau donnant les concentrations des échantillons d'eau prélevés à proximité du CNPE de Fessenheim.

De manière globale, tous les échantillons d'eau analysés ne sont que peu voire pas pollués. En tout cas, ils suivent les valeurs recommandées par l'INERIS. Une étude sur les sédiments a donc ensuite été effectuée afin de savoir s'ils étaient pollués ou non. Notre objectif suivant fût de savoir si les sédiments superficiels prélevés à Fessenheim étaient pollués.

### b) Echantillons de sédiments

#### i. Plobsheim

Sur les quatre sites étudiés, seuls deux permettaient de prélever des sédiments. Les valeurs des concentrations obtenues sont exprimées en mg/kg de sédiment brut. Le chloroforme ainsi que le bromoforme voient leurs concentrations brutes comprises entre la LD et la LQ dans les deux matrices. Le bromodichlorométhane n'est pas détecté (< LD) mais le dibromochlorométhane peut être quantifié (> LQ), avec dans chaque cas une concentration moyenne d'environ 0,35 mg/kg brut. Il semblerait donc que les ions bromures réagissent préférentiellement comparés aux ions chlorures avec la MON présente dans les sédiments. Une autre explication quant à la faible proportion de chloroforme peut venir du fait que celui-ci s'évapore facilement dans l'eau, bien avant qu'il ait eu le temps de s'adsorber/interagir sur les sédiments. En tout cas, les sédiments prélevés à Plobsheim sont pollués puisque la somme des quatre THMs dépasse 0,25 mg/kg (Tableau 6).

Sédiments	[X] (ppm)			
	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>
B	0.011 <sup>a</sup>	0.003 <sup>b</sup>	0.48	0.044
	0.008 <sup>a</sup>	0.002 <sup>b</sup>	0.26	0.032
	/	/	0.37	0.017
C	0.017	/	0.52	0.03
	0.004	/	0.31	0.02

Tableau 6 - Teneurs en THM des échantillons de sédiments provenant de Plobsheim. a LD<X<LQ. b X <LD

## ii. Fessenheim

Les résultats pour les sédiments de Fessenheim sont quasi-identiques à ceux obtenus pour les sédiments de Plobsheim. Le DCBM est encore une fois positif (> LQ) tandis que les autres THM sont soit absents (< LD, BDCM), soit détectés avec une fiabilité intermédiaire (LD < [THM] < LQ) (Tableau 7). Les sédiments de Fessenheim sont donc pollués et ces résultats viennent compléter ceux précédemment obtenus pour les eaux.

Sédiments	[X] (ppm)			
	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>
JR21	0.04	0.003	0.17	0.06
	0.03	0.002	0.17	0.05
	0.04	~ 0	0.19	0.05
JR23	0.06	/	0.24	0.03
	0.05	/	0.24	0.04
	0.10	/	0.55	0.09

Tableau 7 - Teneurs en THM dans les sédiments prélevés aux abords du CNPE de Fessenheim

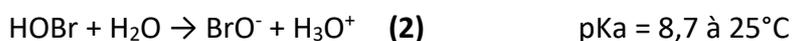
Finalement, la réponse à la problématique vient d'être apportée mais il faut maintenant tenter d'expliquer ces résultats.

## Discussions

Alors que dans la littérature le chloroforme est considéré comme le THM majoritaire par rapport aux trois autres, les résultats de nos études sur les sédiments montrent la présence majoritaire du dibromochlorométhane (DBCM). Nous tenterons dans cette partie d'apporter quelques éléments de compréhension pour essayer d'expliquer la formation et la présence de DBCM dans les couches sédimentaires.

## 1) Formation de dibromochlorométhane

Les ions bromures peuvent s'oxyder soit par l'intermédiaire de l'acide hypochloreux HOCl ou par les ions hypochlorites ClO<sup>-</sup>. Les études semblent démontrer que l'acide réagit plus rapidement [9]. Le produit d'oxydation ainsi formé est l'acide hypobromeux HOBr, qui sera en équilibre avec l'ion hypobromite BrO<sup>-</sup>, selon l'équation acido-basique suivante :



La constante d'acidité pour le couple acide hypochloreux/ion hypochlorite est égale à 7,5 à la même température. Cela signifie que dans des conditions de pH de nos échantillons aqueux ou sédimentaires (pH xx-xx), le rapport HOBr/BrO<sup>-</sup> sera plus élevé que le rapport HOCl/ClO<sup>-</sup>. D'autre part, la constante cinétique de réaction d'oxydation des ions bromures est égale à [9] :

$$k = 4.7 \times 10^4 \times \exp\left(-\frac{754.9}{T}\right) \quad (3) \quad \text{avec } k \text{ en } \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1} \text{ et } T \text{ en Kelvin}$$

A 25°C (298.15 K), la constante cinétique bimoléculaire d'oxydation est égale à 3 737 L. mol<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>, ce qui indique une réaction rapide. Les acides hypochloreux et hypobromeux constituent de bons électrophiles qui vont pouvoir entrer en compétition avec des réactions de substitution électrophile avec la matière organique naturelle. D'après la littérature, l'acide hypobromeux est un meilleur agent d'halogénéation que son homologue chloré ; par contre ce dernier est reconnu comme étant un excellent agent d'oxydation de la MON. Cette propriété expliquerait donc la formation majoritaire de THM mixtes (chlorobromés), d'autant plus que les ions bromure formés lors de l'oxydation de la matière organique naturelle peuvent être ré-oxydés par l'acide hypochloreux. Il s'agit donc d'un cycle au cours duquel l'acide hypobromeux est régénéré, ce qui n'est pas le cas de l'acide hypochloreux. Un tel procédé est favorable à l'incorporation de l'acide hypobromeux dans la MON.

## 2) Sources d'ions bromures

Près du plan d'eau de Plobsheim, de nombreuses industries enregistrent des rejets qui pourraient constituer des sources d'ions bromures. Citons par exemple la sucrerie et raffinerie d'Erstein, située à proximité du barrage de l'Ill, classée dans le registre basias (code ALS6702034) et qui rejette près de 0,4 tonnes d'eau de Javel® par an. Sachant que la masse volumique d'une telle solution est de 1,1 g.cm<sup>-3</sup>, le volume rejeté par jour serait d'environ 1L par jour. Les solutions d'hypochlorite de sodium contiennent en plus ou moins grande concentration des ions bromate BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> [14], qui peuvent à leur tour être réduits en bromure par action des ions Fe<sup>2+</sup> [15]. La station d'épuration de Plobsheim est un autre exemple de source potentielle. Les ions bromures vont alors être oxydés par l'acide hypochloreux et réagir avec la MON. Les characea, famille d'algues vertes d'eau douce, sont particulièrement présentes dans le plan d'eau de Plobsheim et contiennent environ 70% de matière organique [16]. Ce sont également des sources de fer, où les ions bromate peuvent être réduits en ions bromure et par suite former des THMs.

Le brome est un élément chimique qui peut se trouver sous forme de composés organobromés (ex. dibromoéthane), notamment pour des applications avec de l'essence au

plomb. Il se trouve également sous forme de monomère bromé (tétrabromobisphénol A) dans les polyesters ou encore utilisé dans les pesticides (ex. bromure de méthyle). C'est ainsi que l'usine Rhodia opérations (code basias ALS6800699), située en amont du CNPE de Fessenheim, est spécialisée notamment dans la production d'engrais, de matières plastiques de base et de caoutchouc synthétique (Source : société chimique de France). Elle pourrait donc également constituer une source d'ions bromure. Les mines de potasse d'Alsace ont aussi pu constituer une source importante de production de bromure. Le minerai extrait contenait du bromure de potassium en faible quantité (2 à 3 g/L dans les eaux-mères) avec une production de près de 6 000 tonnes/an lors de l'exploitation des gisements de potasse d'Alsace.

### 3) Stabilité de la fibre

Nous avons, dans l'étape suivante, testé la stabilité de la fibre est testée à partir des solutions de dopage dans l'eau hypersolvant en notant l'évolution de l'aire de l'étalon interne. Dans le cas d'une dégradation de la fibre (i.e., diminution progressive de l'aire en fluorobenzène), un coefficient correctif est appliqué pour rendre compte des concentrations réelles de chaque

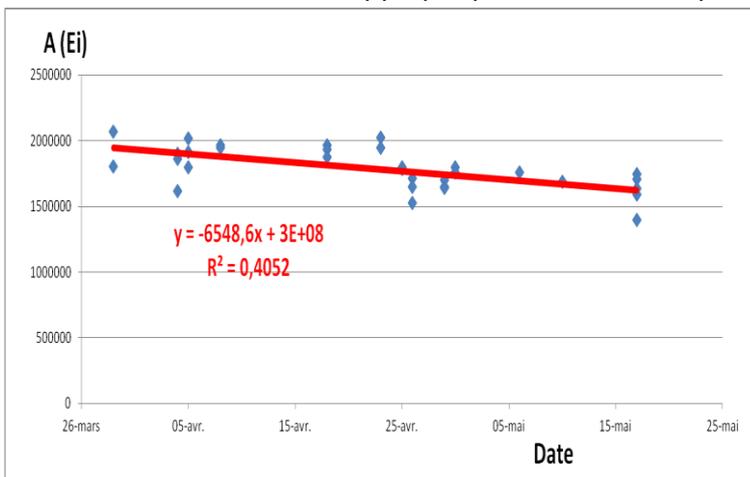


Figure 10 - Variation de l'aire en étalon interne avec le nombre d'utilisations de la fibre

THM, ceci dans n'importe quel dopage. La Figure 10 montre bien une lente et progressive dégradation de la fibre. Heureusement, l'aire de l'étalon interne à la date du 17 mai vaut 82% de celle en étalon interne à la date du 29 mars, date qui correspond à la première utilisation de la fibre. Il est alors possible de continuer à utiliser la fibre, en veillant cependant à ce qu'il n'y ait pas de chute de l'aire en étalon interne.

### 4) Stabilité des solutions

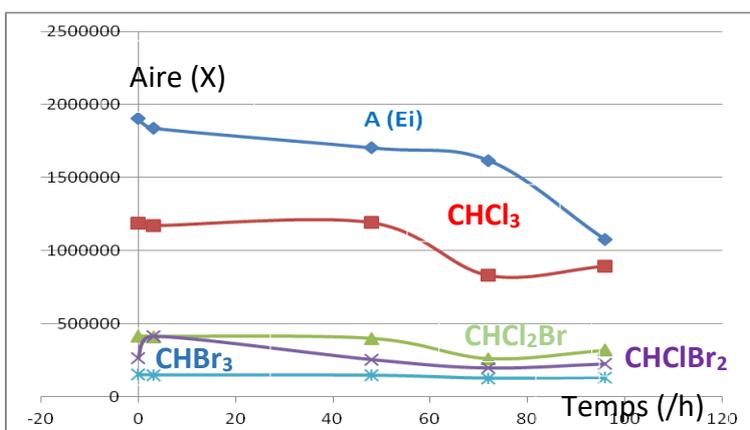


Figure 11 - Stabilité d'une solution de THM conservée au congélateur

(160ppm) : un avec la solution en mix THM gardée à température ambiante et une autre avec la même solution mais conservée à -4°C. La Figure 11 montre l'évolution de l'aire de chaque

Des études complémentaires visant à étudier la cinétique de dégradation des solutions en mix THMs et en étalon interne nous sont apparues nécessaires pour évaluer le temps de conservation de celles-ci et savoir si la température ambiante accélèrait ou non la dégradation des composés. Chaque jour, pendant 4 jours, deux dopages ont été effectués dans de l'eau hypersolv® et à la même concentration

analyte ainsi que celle de l'étalon interne, pour une conservation au congélateur. Pendant les 48 premières heures, l'aire de chaque composé est à peu près constant mais une chute est observée au-delà de 2 jours de conservation de l'échantillon à -4°C. La plus importante concerne l'aire de l'étalon interne, elle ne vaut plus qu'environ la moitié de sa valeur initiale au bout de 96 h. En ce qui concerne les autres composés, plus celui-ci est volatil, plus la chute d'aire est importante. Cette observation est cohérente puisque les composés volatils sont les moins bien conservés en solution.

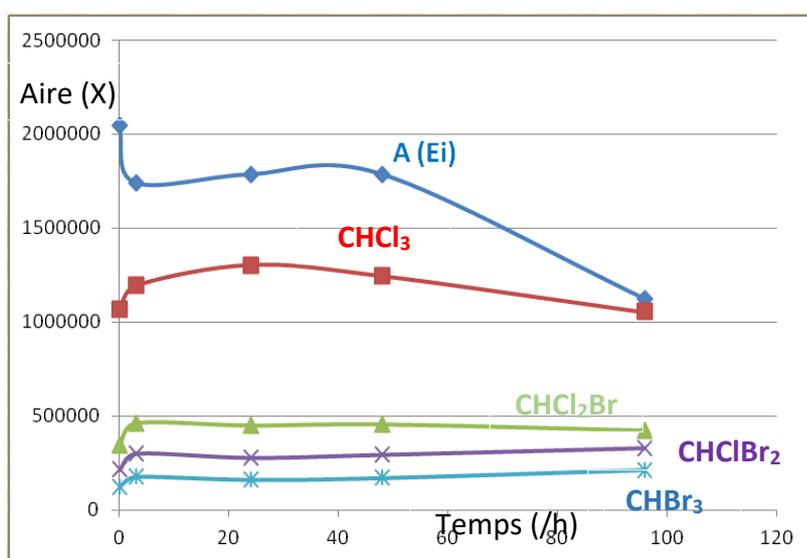


Figure 12 - Stabilité des solutions de mix THM ainsi que celle en étalon interne pour une conservation à température ambiante

La Figure 12 montre l'évolution des aires de tous les THMs ainsi que celle de l'étalon interne mais pour une solution conservée à température ambiante. Globalement, la même tendance est observée que pour le cas précédent : les trois THMs les moins volatils ne sont pas sensibles à l'effet de la température, seul le chloroforme l'est. Il apparaît donc indispensable de changer de solution régulièrement, afin de ne pas sous-estimer les résultats, chose que nous avons anticipé dans le cadre de nos expériences.

## 5) Identification des composés

Avant de commencer toute analyse d'échantillon sur la colonne DB-624™, les temps de rétention de tous les THMs ainsi que celui de l'étalon interne avaient été déterminés par injection liquide d'une solution des mix THMs dans l'injecteur, d'une solution de chloroforme et d'une solution de fluorobenzène, toutes stabilisées dans du méthanol. Les quatre THMs, classés par volatilité décroissante, c'est-à-dire du chloroforme au bromoforme, présentent des temps de rétention respectifs de 4,8, 7,6, 8,9 et 9,8 minutes. L'étalon interne est repéré par son temps de rétention de 6,5 minutes. Bien entendu, tous les résultats furent obtenus en appliquant les mêmes conditions d'élution (i.e., gradient de température).

Par la suite, les temps de rétentions sont repérés en superposant les dopages à trois niveaux de concentration (0,15, 0,4 et 0,6 mg/kg de sédiment brut) avec le chromatogramme de l'échantillon seul. Des analyses complémentaires auraient pu être effectuées (manque de temps), comme par exemple en remplaçant la colonne DB-624™ par la colonne HP-5MS™ et en gardant les mêmes conditions de séparation. Ces expériences nous ont permis de clairement identifier les THMs sur les matrices sédimentaires. Des tests ont été menés avec une GC-MS mais la sensibilité de la méthode ne nous a pas permis de conclure sur la base de ces expériences seules.

## Conclusion

En complément des travaux menés par mon prédécesseur, Antoine Godfrey, un protocole d'extraction des THMs dans les sédiments fût optimisé puis validé et une étape d'échantillonnage proposée. Il ne fait pas de doute qu'avec du matériel plus approprié, (ex., Benne *Van Veen*, Benne *Eckman*) le risque de dégradation des échantillons aurait été minimisé. Fort heureusement, la simple utilisation d'une pelle en inox® donne déjà de bons résultats. Elle présente par ailleurs l'avantage d'être peu encombrante, très simple d'utilisation et peu onéreuse. Les résultats obtenus lors de ce stage concernant les échantillons d'eau sont en accord avec ceux obtenus l'année dernière et viennent compléter la compréhension des mécanismes de migration des THMs.

La présence des trihalométhanes dans les sédiments, contrairement à l'eau, est la signature d'un mécanisme d'adsorption favorable des THMs sur les sédiments. La technique SPME en mode espace de tête, permet l'extraction sélective des composés volatils et constitue une méthode de concentration des échantillons (i.e., facteur de concentration de l'ordre de 400). Le détecteur FID, bien que moins sensible qu'un détecteur ECD (i.e., Electron Capture Detector), est suffisant pour les limites de détection requises dans le contexte de ce stage. D'autres méthodes de purification et de concentration, telles que la SPE (i.e., Solid Phase Extraction), auraient pu être également envisageables en vue de remonter aux concentrations réelles. Seulement, par manque de temps et de moyens financiers au moment t, cette solution n'a pas été abordée. Des études plus approfondies, sur des sédiments en profondeur, permettront par ailleurs d'en apprendre d'avantage sur l'historicité du site étudié voire même de dire si la pollution est attribuable au CNPE de Fessenheim. Ces questions en suspens seront sans aucun doute abordées dans la suite de ce projet.

## Bibliographie

- 1 L. de Castro Medeiros, F. de Alencar, J. Navoni, A. de Araujo and V. do Amaral, *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, **26**, 5316-5332
- 2 A. Godfrey, *Mémoire de stage*, Master 2 Sciences analytiques, Université de Strasbourg, 2018, 1-44
- [3] O. Gupta, Déclaration d'arrêt définitif des réacteurs n° 1 et 2 de la centrale nucléaire de Fessenheim, In : *Site actu-environnement [en ligne]* (Modifié le 19 octobre 2018), Disponible sur <<https://www.actu-environnement.com/media/pdf/news-32239-Courrier.pdf>> (Consulté le 24/06/2019)
- 4 EDF, Résumé non technique de l'étude d'impact, *Déclaration de modification au titre de l'article 26*, 2009, 1-33
- 5 L. Merckling, P. Knibiely, M-C. Fuchs, M. Heyberger and B. Scaar, Plan de gestion de la Réserve Naturelle de la Petite Camargue Alsacienne, *Petite Camargue Alsacienne*, 2012-2016, 1-118
- 6 AFSSA et INVS, Les sous-produits de chloration dans l'eau destinée à la consommation humaine en France, *Institut de veille sanitaire*, 1-76
- 7 G. Roger, Structure et dynamique de substances humiques et polyélectrolytes modèles en solution **[en ligne]**, Thèse de doctorat en chimie-physique et chimie analytique, Paris : université Pierre et Marie Curie, 2010, 1-119, Disponible sur <<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00531539>> (Consulté le 24/06/2019)
- 8 IRSTEA, Synthèse bibliographique sur la faisabilité des sondes spectrophotométriques pour la caractérisation in situ de la matière organique, *Programme scientifique et technique*, 2015, 1-19
- 9 A. Nikolaou, *Haloforms and Related Compounds in Drinking Water*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2003.
- 10 B. Legube, Etude des sous-produits de désinfection et les risques de formation au regard des ressources, des filières et des réseaux, *Agence régionale de santé Pays de Loire*, Rapport N° 01630387, 2013, 1-46
- 11 L. Amalric, Analyse de polluants organiques dans les sédiments: procédures de dopage pour la validation des méthodes, *Rapport AQUAREF*, 2011, 1-44
- 12 INERIS, Principaux textes réglementaires en lien avec l'après mine et pollutions minières potentielles impactant les milieux eaux et sols, Rapport N° DRC-07-86106-09249C, 2007, 1-375
- 13 AQUAREF, Opérations d'analyse physico-chimique des eaux et des sédiments en milieu continental dans le cadre des programmes de surveillance DCE, Guide des *recommandations techniques*, Edition 2015, 1-34
- 14 AFSSA, Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement des limites de qualité des bromates dans les eaux destinées à la consommation humaine, Saisine N° 2004-SA-0063, 12
- 15 F. Wang, V. Salgado, J. van der Hoek and D. van Halem, Bromate reduction by iron(II) during managed aquifer recharge: a laboratory scale study, *Water*, 2018, **10**, 370
- 16 R. Holder, Etude visant à déterminer les causes des mortalités piscicoles du plan d'eau de compensation de Plobsheim, In : *Site peche67 [en ligne]*, Disponible sur <<https://www.peche67.fr/Fichiers/5448-Rapport%20Plobsheim%202018.pdf>> (Consulté le 24/06/2019)

# Annexes

## Liste des annexes

**Annexe 1** : Propriétés physico-chimiques des THMs

**Annexe 2** : Précautions et propriétés toxiques des THMs

**Annexe 3** : composition des solutions étalons

**Annexe 4** : Solutions utilisées pour la préparation des dopages

**Annexe 5** : Matériel utilisé en SPME

**Annexe 6** : Comparaison des spectres obtenus sur la DB-624 et la HP-5MS en injection liquide

**Annexe 7** : Chromatogrammes du point haut (320 µg/L) et du point bas (40 µg/L) de la gamme d'étalonnage

**Annexe 8** : Coordonnées des sites de prélèvements

**Annexe 9** : Chromatogrammes des échantillons de terrain

**Annexe 10** : méthode d'estimation de la limite de détection et de quantification

**Annexe 11** : Identifications des pics parasites

**Annexe 12** : Chromatogramme d'un dopage de haute concentration

**Annexe 13** : Blanc SPME

**Annexe 14** : Chromatogrammes utilisé pour estimer les LD et les LQ des THMs

**Annexe 15** : Chromatogramme d'identification des THMs

**Annexe 16** : Courbes d'étalonnages des 4 THM (rapport des aires)

**Annexe 17** : Courbes d'étalonnages des 4 THM (aires)

**Annexe 1** : Propriétés physico-chimiques des THMs

Nom	Formule	Masse molaire (g/mol)	T ébu. (°C)	M. vol. (g/mL)	Solubilité (g/L) dans H <sub>2</sub> O à 25°C
Chloroforme	CHCl <sub>3</sub>	119.4	62	1.48	3.81
Bromodichlorométhane	CHCl <sub>2</sub> Br	163.8	90	1.98	4.5
Dibromochlorométhane	CHClBr <sub>2</sub>	208.3	119-120	2.45	Très faible
Bromoforme	CHBr <sub>3</sub>	257.7	147-151	2.9	1.0

**Annexe 2** : Précautions et propriétés toxiques des THMs

THM	Précautions (SGH)	Classification IARC
<b>Chloroforme</b> CHCl <sub>3</sub>		2B
<b>Bromodichlorométhane</b> CHBrCl <sub>2</sub>		2B
<b>Dibromochlorométhane</b> CHBr <sub>2</sub> Cl		3
<b>Bromoforme</b> CHBr <sub>3</sub>		3

(IARC) 2B : effet cancérigène supposé / 3 : non classifié

**Annexe 3** : composition des solutions étalons

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/mL)	Déviaton (µg/L)	Marque
Bromodichlorométhane	CHBrCl <sub>2</sub>	98.0	2000	± 108.80	Cluzeau Info Labo France
Dibromochlorométhane	CHBr <sub>2</sub> Cl	98.0	2000	± 108.80	
Tribromométhane	CHBr <sub>3</sub>	99.1	2000	± 108.80	
Trichlorométhane	CHCl <sub>3</sub>	99.8	2000	± 108.80	
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	99.9			

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/mL)	Déviaton (µg/L)	Marque
Bromodichlorométhane	CHBrCl <sub>2</sub>	98.0	100	± 5.44	Cluzeau Info Labo France
Dibromochlorométhane	CHBr <sub>2</sub> Cl	98.0	100	± 5.44	
Tribromométhane	CHBr <sub>3</sub>	99.1	100	± 5.44	
Trichlorométhane	CHCl <sub>3</sub>	99.8	100	± 5.44	
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	99.9			

Nom	Formule chimique	Pureté (%)	Concentration (µg/L)	Déviaton (µg/L)	Marque
Fluorobenzène	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> F	99.0	2000	± 108.80	Cluzeau Info Labo France
Méthanol	CH <sub>3</sub> OH	99.9			

**Annexe 4** : Solutions utilisées pour la préparation des dopages

. **Méthanol**  $\geq 99,9$  %, HiPerSolv CHROMANORM® ACS, Reag. Ph. Eur., super gradient grade pour HPLC, pour les systèmes UPLC/UHPLC/Ultra HPLC. Marques : VWR Chemicals. (n°85681,290)

. **Eau**, HiperSolv CHROMANORM® pour HPLC. Marques : VWR Chemicals. (n°23595,328)

. **Chlorure de sodium** AnalAR NORMAPUR. Marques : VWR Chemicals. (n°27810,295)

**Annexe 5** : Matériel utilisé en SPME

. **Fibre** : SPME Fiber Carboxen/PDMS Manual Merlin 75  $\mu\text{m}$ . Marque : Agilent (n°SU57344U)

. **Holder** : SPME fiber holder for manual sampling. Marque : Agilent (n°391896401)

. 15 mL SPME Stand. Marque : Agilent. (n°SU5735U)

. **Linier** : Ultra Inert, straight 0.75mm ID Recommended for SPME injections. Marque : Agilent. (n°5190-4048)

. Merlin Microseal, SPME repl,23Ga,1/pk. Marque : Agilent (n°392609902)

. Ecrou pour Merlin Microseal haute pression. Marque : Agilent (n°5182-3445)

. Ferrule, d.i. 0,4 mm, 15% Graphite/85% Vespel, colonne courte 0,1-0,25 mm, 10/pqt. Marque : Agilent (n°5181-3323)

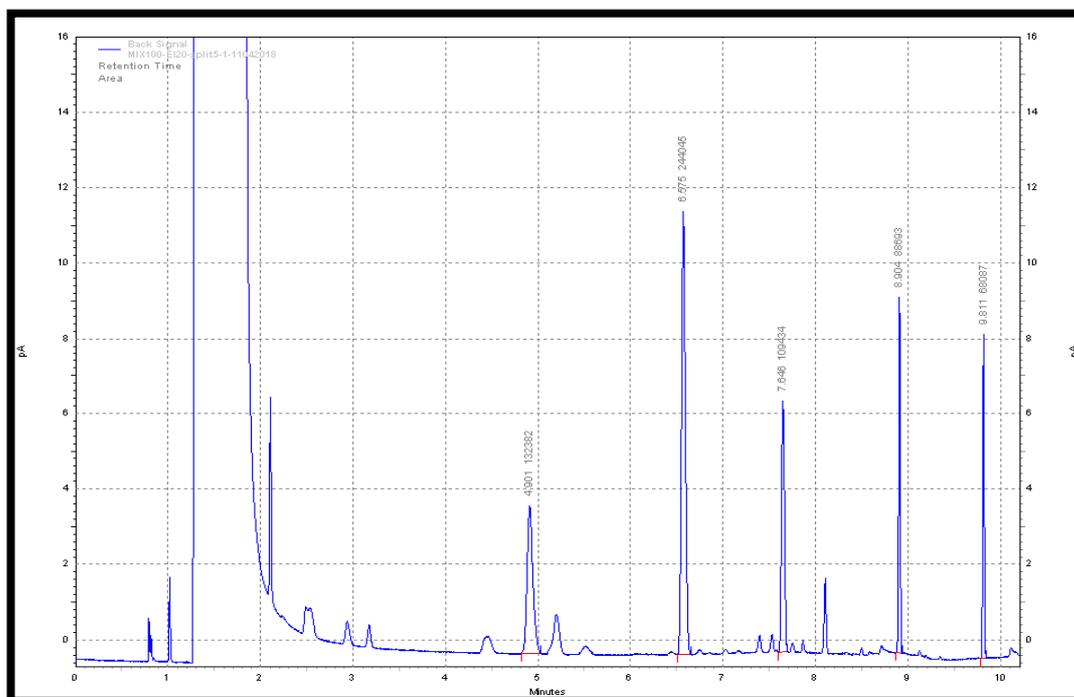
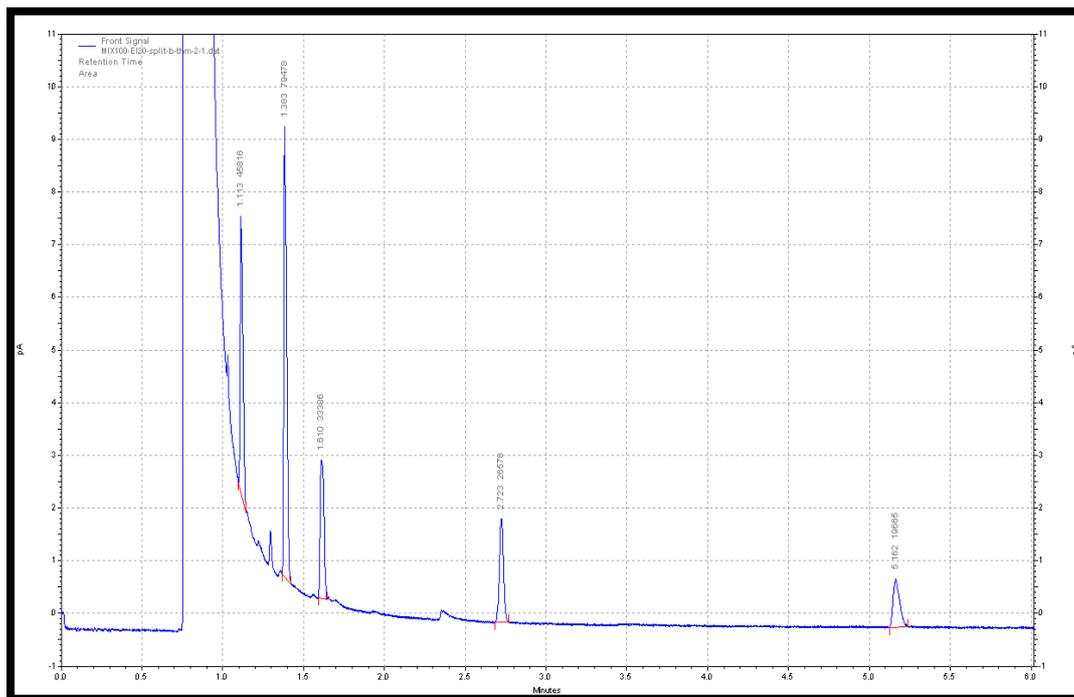
. 2 Ecrous pour colonne capillaire. Marque : Agilent (n°5181-8830)

. **Vials**, screw top, clear glass, volume 15 mL. Marque : Supelco (n°27162)

. Assembled screw cap with hole with PTFE/silicone septum. Black polypropylene hole cap, PTFE/silicone, septum thickness 1.5 mm, for use with 15 ML vial. Marque : Supelco (n°27020)

**Annexe 6** : Comparaison des spectres obtenus sur la DB-624 et la HP-5MS en injection liquide

Composés	CHCl <sub>3</sub>	fluorobenzène	CHCl <sub>2</sub> Br	CHClBr <sub>2</sub>	CHBr <sub>3</sub>
HP-5MS/ Tr (min)	1.1	1.4	1.6	2.7	5.2
DB-624 / Tr (min)	4.9	6.6	7.7	8.9	9.8





**Annexe 9 : Chromatogrammes des échantillons de terrain**

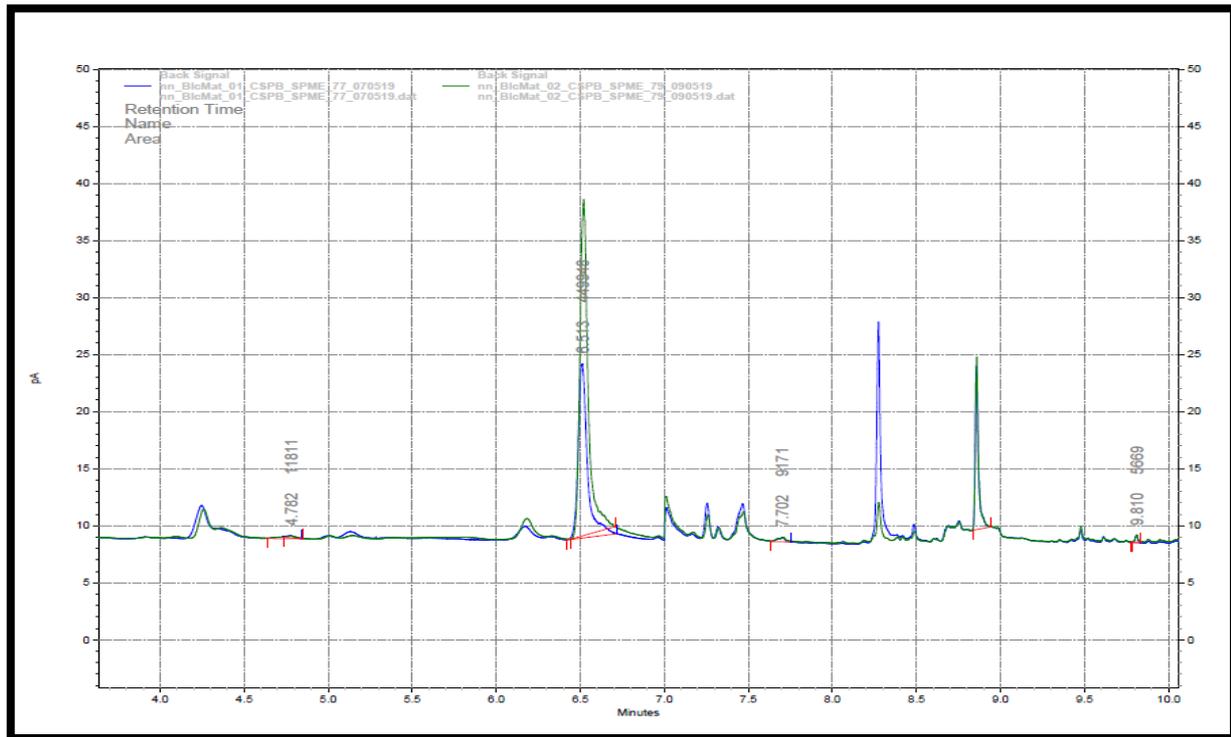


Figure 16 - Deux chromatogrammes de l'échantillon CSPB

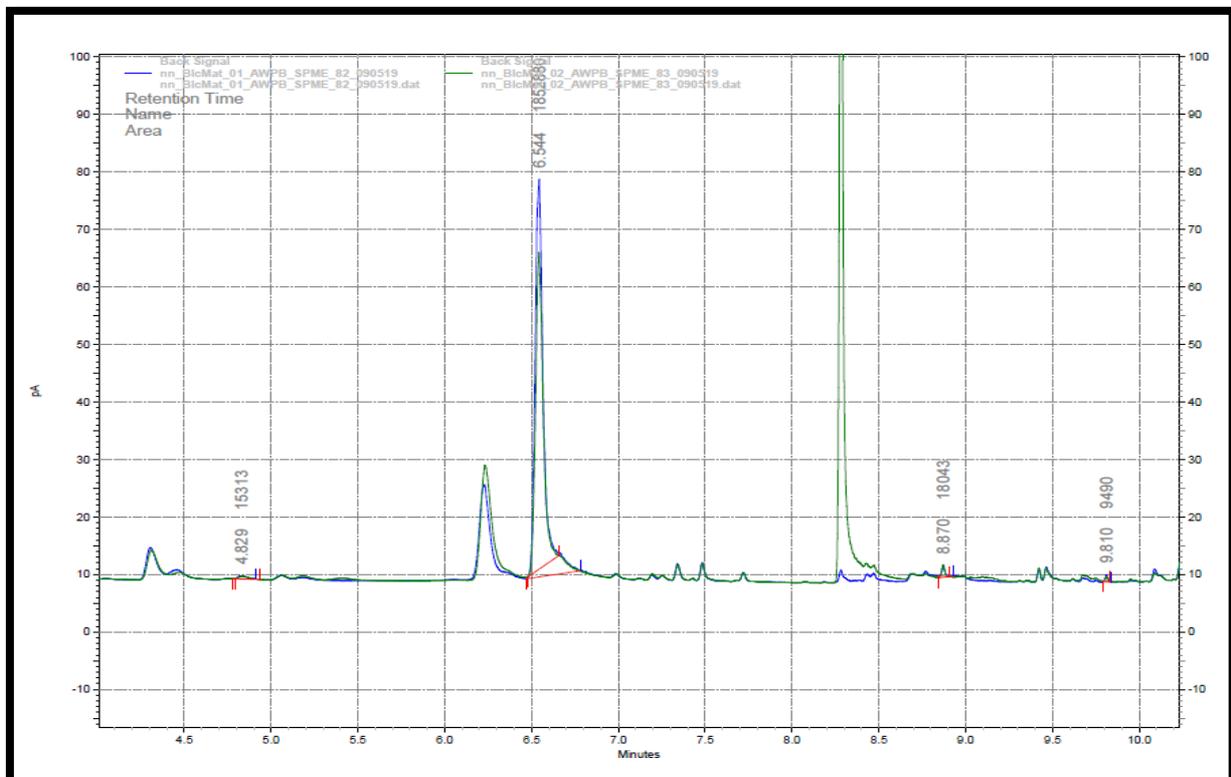


Figure 17 - Deux chromatogrammes de l'échantillon AWPB



**Annexe 12 : Blanc fibre**

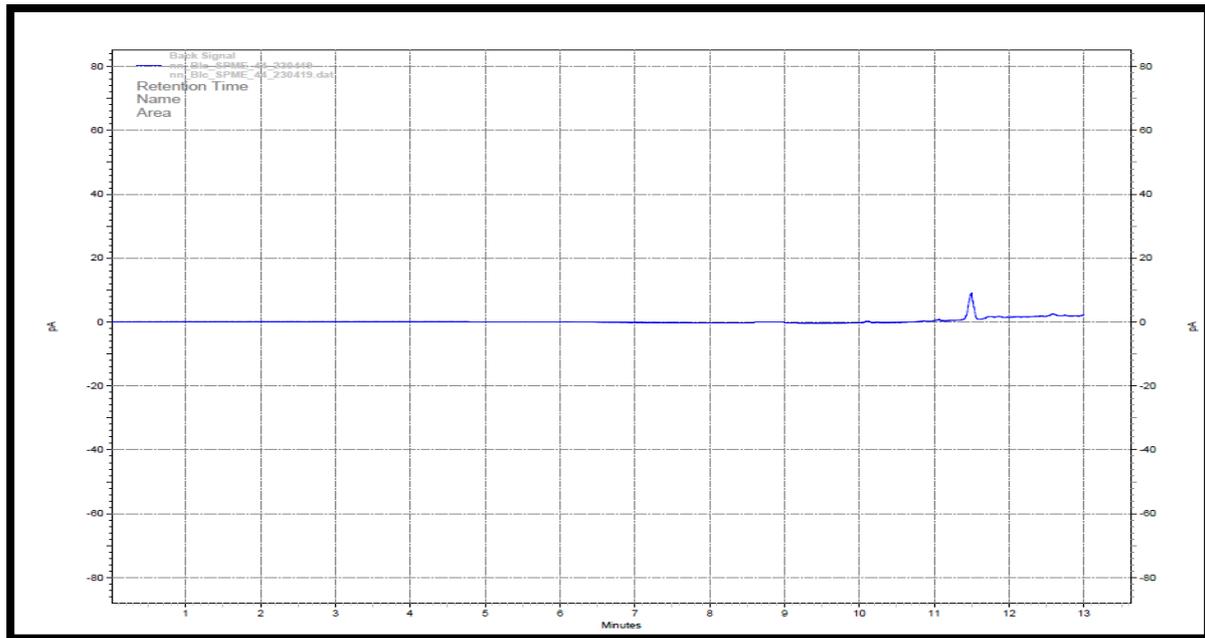


Figure 20 - Chromatogramme de la fibre après 1 heure de conditionnement

**Annexe 13 : Courbes de calibration externes**

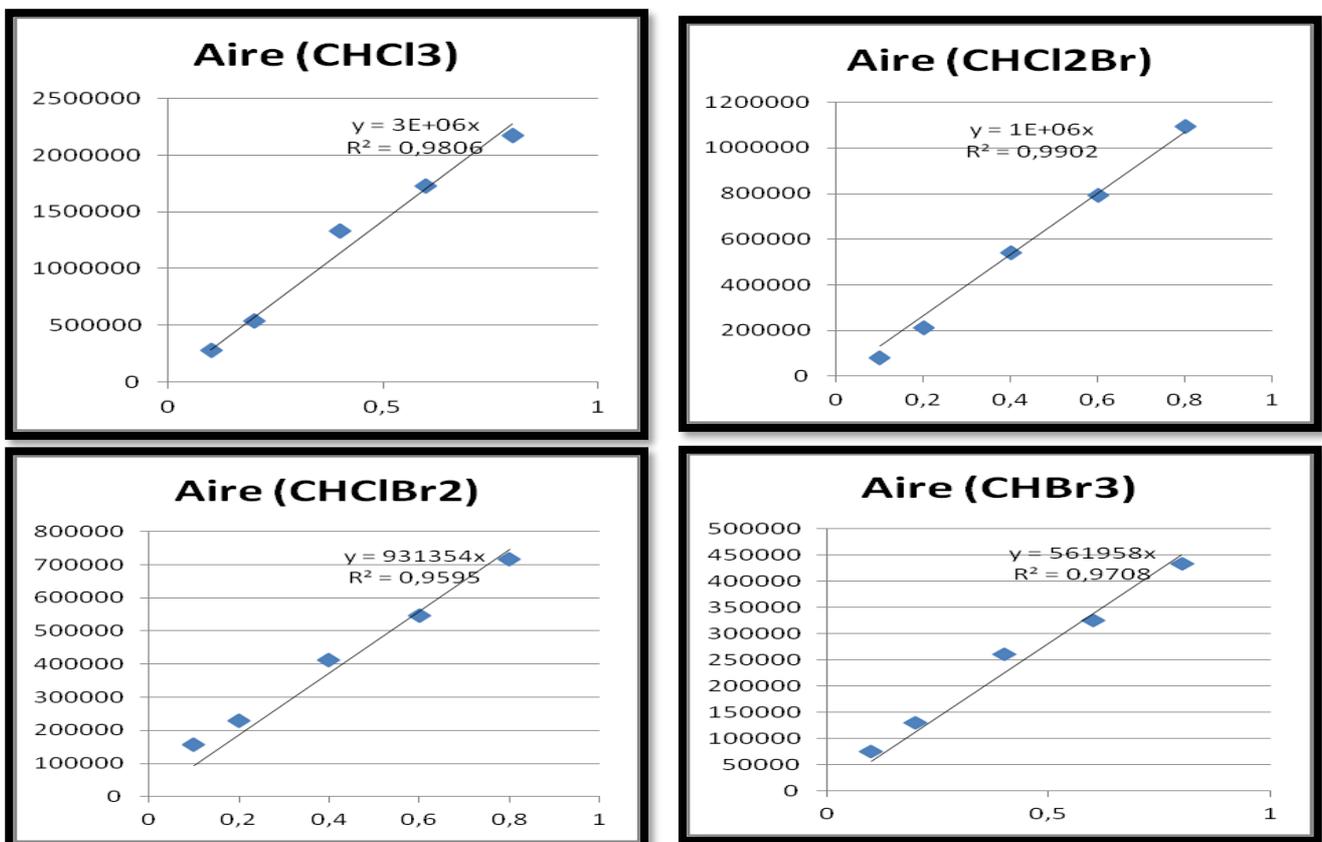


Figure 21 - Aire de chaque THM en fonction de la concentration de dopage en mg/kg de sédiments bruts

**Annexe 14** : Courbes de calibration internes

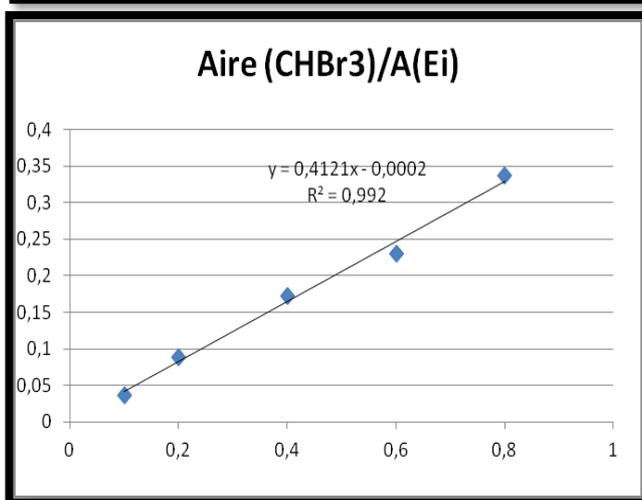
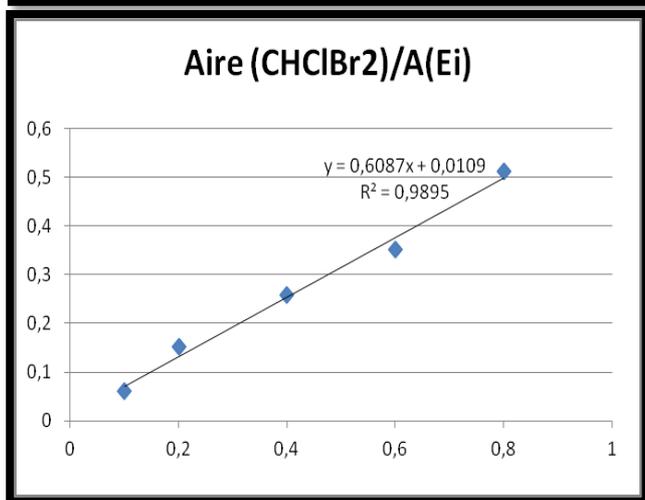
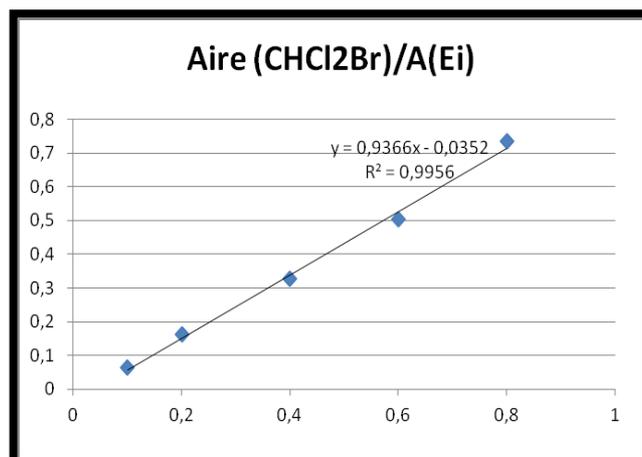
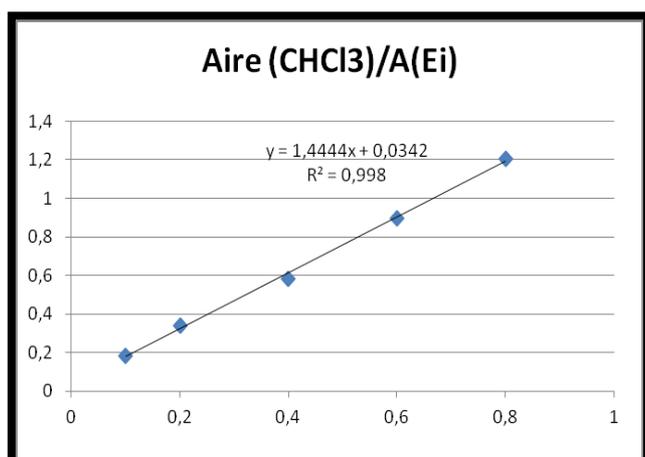


Figure 22 - Rapports d'aires de chaque THM en fonction de la concentration de dosage en mg/kg de sédiments bruts